

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL BUAH PARE
(*Momordica charantia* L.) TERHADAP SEL KANKER
MCF-7 DAN T47D**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Jurusan Farmasi
Fakultas Farmasi**

Oleh:

FITRI NUR KHARIMA

K 100 150 101

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2019**

HALAMAN PERSETUJUAN

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL BUAH PARE
(*Momordica charantia* L.) TERHADAP SEL KANKER
MCF-7 DAN T47D**

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

FITRI NUR KHARIMA

K 100 150 101

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



Ratna Yuliani, S.Si, M.Biotech.St
NIK.957

HALAMAN PENGESAHAN

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL BUAH PARE
(*Momordica charantia* L.) TERHADAP SEL KANKER
MCF-7 DAN T47D
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA**

OLEH

FITRI NUR KHARIMA

K 100 150 101

**Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Selasa, 22 Januari 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

Dewan Penguji:

- 1. Peni Indrayudha Ph.D., Apt
(Ketua Dewan Penguji)**
- 2. Wahyu Utami, Ph.D., Apt
(Anggota I Dewan Penguji)**
- 3. Ratna Yuliani, S.Si, M.Biotech.St
(Anggota II Dewan Penguji)**

(.....)
(.....)
(.....)



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 26 Desember 2018

Penulis



FITRI NUR KHARIMA

K 100 150 101

AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL BUAH PARE (*Momordica charantia* L.) TERHADAP SEL KANKER MCF-7 DAN T47D

Abstrak

Kanker payudara merupakan jenis kanker dengan prevalensi kanker tertinggi kedua setelah kanker serviks. Beberapa pengobatan kanker memiliki efek samping yang kurang menyenangkan bagi pasien. Buah pare (*Momordica charantia* L.) memiliki kandungan senyawa yang dapat berkhasiat sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol buah pare pada sel kanker MCF-7 dan T47D serta kandungan senyawa dalam ekstrak etanol buah pare. Buah pare diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak buah pare adalah metode MTT assay dengan seri konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 50, 100, 200, 400, dan 800 µg/mL. Kandungan senyawanya dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah pare memiliki nilai IC_{50} sebesar 408,823 µg/mL pada sel MCF-7 dan 155,459 µg/mL pada sel T47D. Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak buah pare mengandung senyawa terpenoid, flavonoid, saponin steroid, fenolik, dan alkaloid. Ekstrak etanol buah pare tidak memiliki aktivitas sitotoksik yang potensial untuk dikembangkan.

Kata Kunci: Buah pare, *Momordica charantia*, MTT, Sel MCF-7, Sel T47D, KLT.

Abstract

Breast cancer is a type of cancer with the second highest prevalence of cancer after cervical cancer. Some cancer treatments have side effects. Bitter melon fruit (*Momordica charantia* L.) contains compounds that have anticancer activity. This study aims to determine cytotoxic activity of ethanolic extract of bitter melon fruit on MCF-7 and T47D cancer cells and identify natural compounds in the ethanolic extract of bitter melon fruit. Bitter melon was extracted using maceration method with 96% ethanol. The method used to determine the cytotoxic activity of bitter melon extract was the MTT assay method with the extract concentrations series of 50, 100, 200, 400, and 800 µg/mL. The compounds in the extract were analyzed using thin layer chromatography (TLC). Cytotoxic tests result showed that the ethanolic extract of bitter melon fruit had IC_{50} values of 408,823 µg/mL on MCF-7 and 155,459 µg/mL cells in T47D cells. The results of TLC showed that the ethanolic extract of bitter melon fruit contains terpenoids, flavonoids, steroid saponins, phenolics, and alkaloids. Ethanolic extract of bitter melon fruit has no potential cytotoxic activity to be developed.

Keywords: Bitter melon fruit, *Momordica charantia*, MTT, MCF-7 cell, T47D cell, TLC.

1. PENDAHULUAN

Salah satu penyebab utama kematian di dunia adalah penyakit kanker. Menurut data GLOBOCAN tahun 2012 diketahui bahwa kanker payudara merupakan jenis kanker dengan persentase tertinggi yaitu sebesar 43,3 % dan persentase kematian akibat kanker payudara sebesar 12,9 %. Berdasarkan data riset kesehatan dasar 2013 prevalensi kanker payudara di Indonesia sebesar 0,5 % dan merupakan prevalensi kanker tertinggi setelah kanker serviks (Kemenkes RI, 2015).

Kemoterapi merupakan proses pengobatan kanker yang bertujuan untuk memperlambat pertumbuhan sel kanker, namun kemoterapi memiliki efek samping yang kurang menyenangkan. Efek samping tersebut timbul karena obat-obatan kemoterapi tidak hanya menghancurkan sel kanker tetapi juga menyerang sel yang sehat (Noorwati, 2007). Efek samping yang sering terjadi pada penggunaan kemoterapi antara lain alopesia, mual dan muntah, myelosupresi, mukosis, gangguan fungsi ginjal dan gangguan keseimbangan elektrolit (Sukandar *et al.*, 2014). Masalah lain yang terjadi pada pengobatan kanker yaitu terjadi resistensi terhadap obat-obat antikanker (Noorwati, 2007). Indonesia merupakan negara dengan kekayaan flora nomor dua di dunia, memiliki berbagai macam tumbuhan termasuk untuk pengobatan kanker (Ma'at, 2004). Senyawa aktif dari tanaman herbal merupakan salah satu alternatif dalam pengobatan kanker karena memiliki efek samping yang minimal (Zafrial, 2018).

Buah pare memiliki aktivitas untuk menyembuhkan sakit perut, demam, batuk, gangguan menstruasi, dan hipertensi (Weng *et al.*, 2013). Ekstrak buah pare mengandung metabolit sekunder yaitu flavonoid, fenol, dan alkaloid (Wardhani, 2015). Selain itu menurut Kwatra *et al.* (2016), buah pare memiliki aktivitas yang potensial terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan MDA-MB-231, sel kanker usus besar HCT-116, kanker pankreas, kanker hati, sel kanker prostat PC3 dan LNCaP, dan kanker kulit. Weng *et al.* (2013) menyatakan bahwa senyawa 3β , 7β -dihidroksi-25-metoksikukurbita-5,23-din-19-al (DMC) yang diisolasi dari tanaman pare memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 dan sel MDA-MB-231 dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 14,3 dan 17,6 μ M serta dapat menekan proliferasi sel MCF-7 dengan cara menginduksi apoptosis. Ekstrak metanol buah pare memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7, sel HepG2, dan sel HCT116 dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 1,35, 0,77, dan 0,81 μ g/mL (Alshehri, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol buah pare terhadap sel kanker MCF-7 dan T47D serta mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol buah pare.

2. METODE

2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu inkubator CO₂ (Binder), sentrifugator (Mikro 200R), *rotary evaporator* (Heidolph), *waterbath* (Memmert), mikropipet (Socorex), almari pengering, blender, gelas Beaker (Pyrex), vorteks (Maxi Mix II), sonikator (Branson 2510), pipet Pasteur, LAF (Laminar Air Flow) (ESCO), *counter*, hemositometer (Marienfield Germany), timbangan analitik (Ohaus), dan botol Schott Duran, mikroskop (Olympus), *ELISA reader* (Bio-tek ELX800).

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu buah pare yang diperoleh dari pasar Tawangmangu Karanganyar Jawa Tengah, dimetil sulfoksida (DMSO), kertas saring, plat silika gel GF₂₅₄, reagen sitroborat, reagen Lieberman-Burchard, reagen FeCl₃, reagen Dragendorff, larutan 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid (MTT), sel MCF-7 dan T47D, Bufer Fosfat Salin (PBS), tripsin-EDTA, media kultur *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM) dan *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI), Sodium Dodesil Sulfat (SDS) 10% dalam 0,01 N HCl, alumunium foil, metotreksat, doksorubisin, *conical tube*, *microtube*, *96-well plate* (Iwaki), *yellow tip*, *blue tip*, dan *white tip*.

2.3 Ekstraksi buah pare

Buah pare yang masih muda dicuci, dipotong tipis-tipis, dikeringkan pada oven dengan suhu 40°C kemudian diblender. Ekstraksi buah pare dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Buah yang sudah diblender ditimbang 120,28 g, direndam dalam etanol 96% 840 mL (perbandingan 1:7), kemudian disimpan selama 3 hari dan sesekali diaduk. Cairan penyari ekstrak etanol buah pare diuapkan di *rotary evaporator* dan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak etanol buah pare yang kental.

2.4 Uji Sitotoksik

Aktivitas sitotoksik ekstrak buah pare diuji dengan menggunakan metode *MTT assay*. Uji dimulai dengan pembuatan media kultur dan kultur sel. Media kultur yang digunakan adalah media kultur DMEM untuk sel MCF-7 dan RPMI untuk sel T47D. Media kultur dibuat dengan mecairkan FBS dan penisilin-streptomisin pada suhu kamar, disiapkan botol Duran volume 100 mL kemudian diambil 1 mL penisilin-streptomisin dituangkan dalam botol Duran. Media cair ditambahkan pada botol Duran hingga 100 mL. Media kultur yang sudah siap dimasukan dalam *conical tube*, suspensi sel dicairkan kemudian diambil 1000 µL dan dimasukan dalam media kultur. Media kultur yang berisi sel disentrifus selama 5 menit, setelah itu supernatan media kultur dibuang, ditambahkan

media kultur baru 4 mL dan sel diresuspensi hingga homogen. Kemudian sel ditransfer masing-masing 2 mL kedalam 2 dish dan ditambahkan masing-masing 5 mL media kultur kedalam dish. Sel yang selesai dikultur disimpan di inkubator CO₂. Langkah selanjutnya dilakukan panen sel. Panen sel dilakukan setelah sel 80% konfluen, sel diambil dari inkubator CO₂, kemudian media dibuang dengan menggunakan mikropipet atau pipet Pasteur steril. Sel dicuci dengan menggunakan PBS sebanyak 5 mL (volume PBS ½ volume media awal) dan diulang 2 kali. Kemudian tripsin-EDTA (trypsin 0,25%) sebanyak 5 mL ditambahkan secara merata dan diinkubasi dengan suhu 37°C dalam inkubator selama 3 menit, dan ditambahkan media ± 5 ml untuk menginaktifkan tripsin. Sel diamati dibawah mikroskop. Apabila masih ada sel yang menggerombol dilakukan resuspensi kembali. Selanjutnya sel yang telah lepas satu-satu ditransfer ke dalam *conical tube* steril baru, diambil 10 µl Sel dihitung di bawah mikroskop dengan bantuan *counter*.

Ekstrak etanol buah pare ditimbang lebih kurang 10 mg, ditambahkan 100 µL DMSO dan divorteks hingga larut, kemudian ditambahkan media kultur DMEM untuk sel MCF-7 dan RPMI untuk sel T47D hingga 1000 µL. Selanjutnya dibuat seri konsentrasi sampel (50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL, dan 800 µg/mL) dengan pengenceran stok dalam DMSO menggunakan media kultur DMEM untuk sel MCF-7 dan RPMI untuk sel T47D. Sel MCF-7 dan T47D dengan kepadatan sel 10.000 sel per mL ditransfer ke dalam sumuran dalam volume 100 µL dan disisakan 3 sumuran kosong untuk kontrol media. Kemudian kondisi sel diamati menggunakan *inverted microscope*. Sel diinkubasi dengan suhu 37°C di dalam inkubator CO₂ selama 48 jam untuk sel MCF-7 dan 24 jam untuk sel T47D. Setelah itu seri konsentrasi ekstrak etanol buah pare, kontrol pelarut (DMSO), dan kontrol positif (metotreksat dan doksorubisin masing-masing untuk sel MCF-7 dan T47D) dimasukkan ke dalam sumuran (triplo) dan diinkubasi dengan suhu 37°C di dalam inkubator CO₂ selama 24 jam. Media sel dibuang, reagen MTT 0,5 mg/mL sebanyak 100 µL dimasukkan ke setiap sumuran (termasuk kontrol media), sel diinkubasi selama 2 jam di dalam inkubator CO₂ kemudian ditambahkan reagen *stopper* (SDS 10% dalam 0,01 N HCl) sebanyak 100 µL. *Plate* dibungkus dengan alumunium foil dan diinkubasi di tempat gelap pada temperatur kamar selama semalam. Kemudian absorbansi masing-masing sumuran dibaca dengan ELISA *reader* dengan panjang gelombang 550 nm.

Analisis data uji sitotoksik dilakukan untuk menghitung persentase sel hidup dan nilai IC₅₀. Cara menghitung persentase sel hidup sebagai berikut:
Jika absorbansi kontrol pelarut lebih rendah dari kontrol sel maka persentase sel hidup dihitung dengan rumus:

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}}{\text{Absorbansi kontrol pelarut} - \text{Absorbansi kontrol media}} \times 100\% \quad (1)$$

Hasil perhitungan persentase sel hidup tersebut digunakan untuk menghitung IC_{50} . Nilai IC_{50} dihitung dari persamaan regresi linier dengan memasukkan nilai antilog dari konsentrasi sampel sebagai nilai X dan nilai Y = 50% (Cancer Chemoprevention Research Center, 2014).

2.5 Uji kualitatif kandungan senyawa menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kandungan senyawa ekstrak etanol buah pare dianalisis menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ekstrak etanol buah pare dilarutkan dalam etanol, kemudian ditotolkan pada silika GF₂₅₄ dengan jarak elusi 8 cm. Fase gerak yang digunakan yaitu n-heksan:etil asetat = 8:2 sebanyak 10 mL. Plat diamati pada sinar tampak dan di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm kemudian disemprot menggunakan reagen anisaldehida-H₂SO₄, sitroborat, Lieberman-Burchard, FeCl₃, Dragendorff untuk mendeteksi kandungan senyawa terpenoid, flavonoid, steroid, fenolik, dan alkaloid pada ekstrak etanol buah pare.

Analisis data hasil KLT dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol buah pare. Bercak yang dihasilkan pada plat KLT dihitung nilai R_f-nya menggunakan rumus:

$$R_f = \frac{\text{jarak elusi zat terlarut (cm)}}{\text{jarak elusi pelarut (cm)}} \quad (2)$$

Plat KLT disemprot beberapa reagen semprot untuk mendeteksi kandungan senyawa dalam ekstrak etanol buah pare. Reagen semprot tersebut adalah:

1. Reagen anisaldehida-H₂SO₄ digunakan untuk mendeteksi senyawa terpenoid. Warna yang terbentuk yaitu violet pada UV₃₆₆ (Saifudin, 2014).
2. Reagen sitroborat digunakan untuk mendeteksi senyawa flavonoid. Warna yang terbentuk yaitu warna kuning-kehijauan pada UV₃₆₆ (Markham, 1998).
3. Reagen Lieberman-Burchard untuk mendeteksi senyawa saponin steroid. Warna yang terbentuk yaitu biru atau hijau UV₃₆₆ (Farnsworth, 1966).
4. Reagen FeCl₃ untuk mendeteksi senyawa fenolik. Warna yang dihasilkan yaitu hitam pada sinar tampak (Wardhani, 2015).
5. Reagen Dragendorff untuk mendeteksi senyawa alkaloid. Warna yang dihasilkan yaitu coklat atau jingga kecoklatan pada sinar tampak (Wagner and Bladt, 1996).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

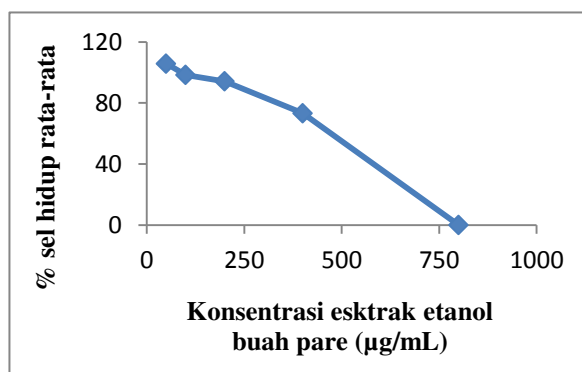
3.1 Ekstraksi buah pare

Ekstraksi buah pare dilakukan dengan menggunakan metode maserasi (perendaman) yaitu dengan merendam material di dalam pelarut. Metode maserasi digunakan karena memiliki cara kerja yang

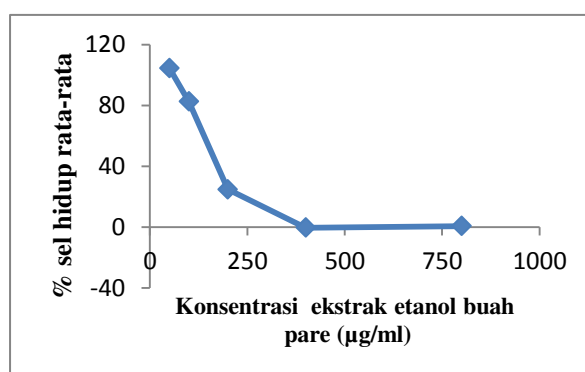
sederhana dan tidak banyak terjadi gangguan fisis (Saifudin, 2014). Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi buah pare yaitu etanol 96% yang merupakan salah satu pelarut pilihan utama untuk mengekstraksi metabolit sekunder karena memiliki daya ekstraksi yang luas sehingga semua metabolit sekunder tersari dalam maserasi (Saifudin, 2014). Hasil ekstraksi dari 120,28 g simplisia buah pare kering diperoleh ekstrak kental buah pare sebanyak 9,97 g, dengan rendemen yang diperoleh sebesar 8,28%. Putra *et al.* (2018) menyatakan dari 550 g buah pare kering yang diekstraksi menggunakan metode maserasi sebanyak 3 kali diperoleh ekstrak kental 113,1 g dengan rendemen yang diperoleh sebesar 20,56%. Hasil rendemen yang diperoleh pada penelitian ini lebih sedikit daripada hasil rendemen yang diperoleh dari penelitian Putra *et al.* (2018). Hal ini disebabkan karena pada penelitian Putra *et al.* (2018) dilakukan maserasi sebanyak 3 kali sementara pada penelitian ini dilakukan maserasi sebanyak satu kali. Sehingga pada penelitian ini diperoleh rendemen yang sedikit karena jumlah senyawa yang tersari pada maserasi satu kali lebih sedikit dari pada jumlah senyawa yang tersari pada maserasi yang dilakukan 3 kali.

3.2 Uji sitotoksik

Uji sitotoksik merupakan evaluasi yang telah terstandarisasi untuk menentukan suatu material mengandung bahan yang berbahaya secara biologis atau tidak (*Cancer Chemoprevention Research Center*, 2014). Aktivitas sitotoksik ekstrak buah pare diuji dengan menggunakan metode MTT *assay*. Prinsip kerja MTT *assay* yaitu perubahan garam tetrazolium MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2)-2,5-dipeniltetrazolium bromida] yang berwarna kuning dengan bantuan enzim NAD(P)H-dependent *cellular oxidoreductase* menjadi (E,Z)-5-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-1,3-difenilformazan (formazan) yang tidak larut dalam air (Bahuguna *et al.*, 2017). Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Reagen *stopper* (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA *reader* (*Cancer Chemoprevention Research Center*, 2014). Intensitas warna ungu berbanding lurus dengan jumlah sel yang hidup. Kelebihan metode ini yaitu memiliki langkah kerja yang sederhana dan efektif dalam menilai aktivitas antiinflamasi dan antikanker dari setiap sampel pada tingkat awal penelitian (Bahuguna *et al.*, 2017). Hubungan terbalik terhadap perlakuan ekstrak buah pare dengan persen sel hidup ditunjukkan oleh hasil pembacaan pada ELISA *reader* dengan panjang gelombang 550 nm, semakin besar konsentrasi ekstrak buah pare pada sel, maka persen sel hidup semakin kecil (Gambar 1, 2). Menurut *National Cancer Institute* (NCI) suatu senyawa tergolong antikanker potensial apabila nilai $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$. Senyawa dapat digunakan sebagai antikanker apabila memiliki aktivitas sitotoksik potensial (Tussanti and Johan, 2014).



Gambar 1. Pengaruh perlakuan ekstrak etanol buah pare terhadap % sel hidup rata-rata sel kanker MCF-7.



Gambar 2. Pengaruh perlakuan ekstrak etanol buah pare terhadap % sel hidup rata-rata sel kanker T47D.

Sel yang digunakan pada penelitian ini yaitu sel kanker payudara MCF-7 dan T47D karena merupakan jenis kanker dengan prevalensi tertinggi kedua setelah kanker serviks. Sel MCF-7 merupakan non mutan P53 dan dapat mengekspresikan esterogen reseptor alfa (ER-alfa) (Comşa *et al.*, 2015). Sel MCF-7 yang sudah 80% konfluen memiliki morfologi bentuknya bulat atau oval dan tidak berwarna pada inti atau tengah bagian sel (Gambar 3a). Menurut Schafer *et al.*, (2000), sel T47D merupakan sel yang dapat mengekspresikan protein P53. Gambar 4a menunjukkan sel T47D 80% konfluen yang memiliki morfologi berbentuk lonjong.

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini yaitu metotreksat dan doksorubisin masing-masing untuk sel MCF-7 dan T47D. Menurut Hassan *et al.* (2014), sel MCF-7 resisten terhadap doksorubisin, sehingga pada penelitian ini digunakan metotreksat sebagai kontrol positif. Metotreksat bekerja dengan menghambat sintesis DNA melalui ikatan secara ireversibel ke dihidrofolat reduktase, menghambat pembentukan folat yang menghasilkan penghambatan sintesis asam purin dan timidin (DIH edisi 17, 2009). Gambar 3c menunjukkan adanya kematian sel akibat

pemberian metotreksat yang ditandai dengan adanya warna hitam pada bagian tengah atau inti sel. Kontrol positif yang digunakan pada perlakuan sel T47D yaitu doksorubisin. Doksorubisin bekerja dengan menghambat topoisomerase II sehingga dapat menghambat siklus sel pada G2/M kemudian menginduksi kematian sel apoptosis (Mizutani *et al.*, 2005). Kematian sel akibat pemberian doksorubisin ditandai dengan adanya warna hitam pada bagian tengah atau inti sel (Gambar 4c). Metotreksat dan doksorubisin masing-masing memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 dan T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 13,63 dan 0,145 $\mu\text{g/mL}$ (Serovala *et al.*, 2011; Abdolmohammadi *et al.*, 2008). Pada hasil penelitian ini, persentase sel hidup terkecil sel MCF-7 sebesar 76,53% dan persentase sel hidup terbesar sel T47D sebesar 6,297% (Tabel 1), sehingga nilai IC_{50} metotreksat dan doksorubisin tidak dapat dihitung karena persentase sel hidup terkecil sel MCF-7 $>50\%$ dan persentase sel hidup sel T47D terbesar $<50\%$.

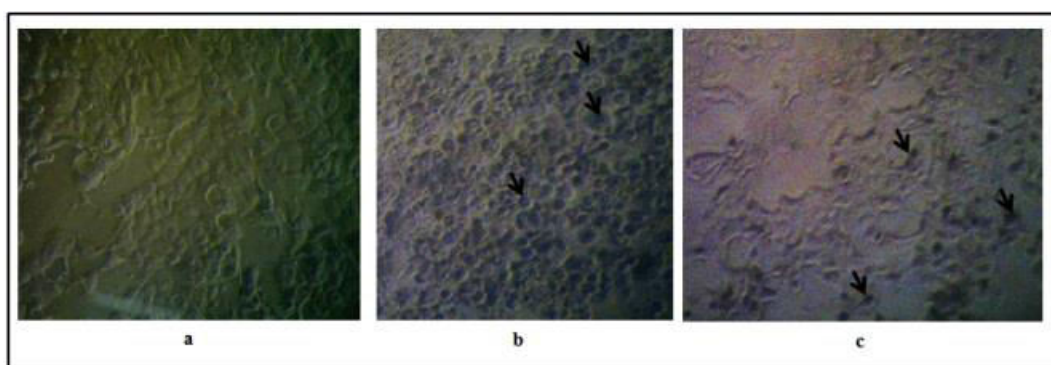
Sel MCF-7 dan T47D diberi perlakuan ekstrak etanol buah pare untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol buah pare terhadap sel tersebut. Pada perlakuan ekstrak buah pare konsentrasi 800 $\mu\text{g/mL}$, sel MCF-7 dan T47D berwarna lebih hitam dibandingkan dengan kontrol sel. Hal ini menunjukkan adanya kematian sel (Gambar 3b, 4b). Pada hasil penelitian ini, ekstrak etanol buah pare memiliki nilai IC_{50} 408,823 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel MCF-7 dan 155,459 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel T47D (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah pare tidak memiliki aktivitas sitotoksik potensial terhadap sel kanker MCF-7 dan T47D karena nilai IC_{50} masing-masing $>20 \mu\text{g/mL}$. Penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak metanol buah pare memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker MCF-7 dengan metode sulforodamin B (SRB) *assay* dengan nilai IC_{50} sebesar 1,35 $\mu\text{g/mL}$ (Alshehri, 2016). Perbedaan hasil pada penelitian ini disebabkan karena perbedaan pelarut yang digunakan. Dimungkinkan pelarut metanol dapat menyari lebih banyak senyawa yang memiliki aktivitas antikanker daripada etanol sehingga menghasilkan nilai IC_{50} yang berbeda terhadap sel kanker MCF-7. Ekstrak metanol buah pare memiliki IC_{50} 1,35 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel MCF-7 lebih kecil dari IC_{50} ekstrak etanol buah pare terhadap sel MCF-7 yaitu 7,75 $\mu\text{g/mL}$. Sehingga dapat diartikan ekstrak metanol buah pare memiliki aktivitas antikanker lebih tinggi terhadap sel MCF-7 daripada ekstrak etanol buah pare (Alshehri, 2016; Shobha *et al.*, 2015). Perbedaan hasil juga disebabkan tempat pengambilan sampel buah pare yang berbeda, kualitas tanah berupa kandungan zat hara dan air berbeda, perbedaan curah hujan, perbedaan durasi paparan sinar matahari menyebabkan kualitas sampel buah pare yang diperoleh berbeda (Astuti *et al.*, 2014).

Tabel 1. Rata rata % sel hidup sel MCF-7 dan T47D setelah diberi perlakuan kontrol positif metotreksat dan doksorubisin

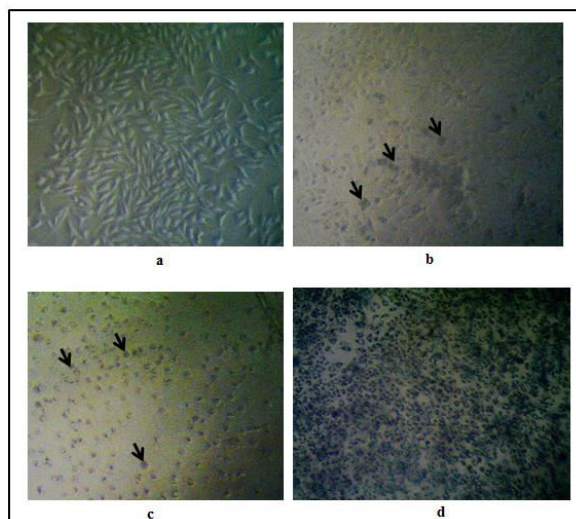
Kontrol positif metotreksat		Kontrol positif doksorubisin	
Konsentrasi (µg/ml)	Rata-rata % sel hidup sel MCF-7	Konsentrasi (µg/ml)	Rata-rata % sel hidup sel T47D
1,25	76,53	1,5625	6,297
2,50	78,60	3,125	4,551
5,00	81,90	6,25	2,494
10,00	79,29	12,5	2,182
20,00	83,90	25	2,182

Tabel 2. Hasil uji sitotoksik ekstrak etanol buah pare terhadap sel MCF-7 dan T47D

Sel	Konsentrasi (µg/mL)	Rata-rata % sel hidup	1C ₅₀ (µg/mL)
MCF-7	50	105,83	408,82
	100	98,39	
	200	94,17	
	400	73,31	
	800	0,15	
T47D	50	98,70	155,45
	100	77,86	
	200	23,23	
	400	-0,51	
	800	0,47	



Gambar 3. Morfologi sel MCF-7 80% konfluen (a), sel MCF-7 setelah perlakuan ekstrak etanol buah pare konsentrasi 800 µg/ml (b), sel MCF-7 setelah diberi perlakuan kontrol positif metotreksat (c)

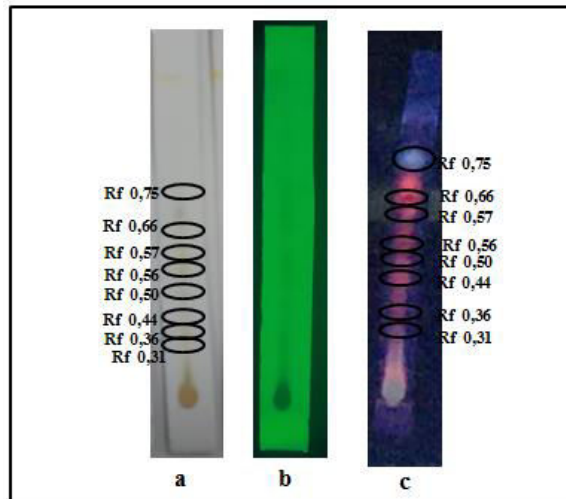


Gambar 4. Morfologi sel T47D 80% konfluen (a), sel T47D setelah perlakuan ekstrak etanol buah pare konsentrasi 800 µg/ml (b), sel T47D setelah diberi perlakuan kontrol positif doksorubisin (c), Sel T47D setelah diberi perlakuan MTT membentuk kristal formazan (d).

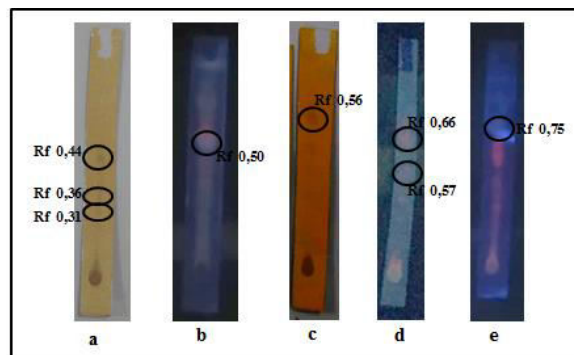
3.3 Analisis kandungan senyawa pada Buah pare

Kandungan senyawa dalam ekstrak etanol buah pare dianalisis dengan menggunakan metode KLT. Keuntungan metode KLT yaitu metode ini lebih sederhana sehingga mudah digunakan, selain itu material yang digunakan juga lebih sedikit sehingga lebih hemat biaya (Preethi *et al.*, 2017). Ekstrak buah pare dengan konsentrasi 50% b/v dielusi menggunakan fase gerak hasil optimasi n-heksan : etil asetat (8:2) dengan fase diam silika GF₂₅₄.

Deteksi kandungan senyawa dilakukan menggunakan reagen semprot yaitu reagen anisaldehida-H₂SO₄, sitroborat, Lieberman-Burchard, FeCl₃, dan Dragendroff dan hasilnya diamati pada sinar tampak dan sinar UV 366 nm. Hasil KLT masing-masing disemprot menggunakan anisaldehida-H₂SO₄, sitroborat dan Lieberman-Burchard kemudian diamati pada sinar UV 366 nm menghasilkan warna violet, hijau muda, dan biru. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak buah pare mengandung senyawa terpenoid, flavonoid, dan saponin steroid. Selain itu pada penyemprotan hasil KLT menggunakan reagen FeCl₃ dan Dragendroff ketika diamati pada sinar tampak masing-masing menghasilkan warna hitam dan coklat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak buah pare juga mengandung senyawa fenolik dan alkaloid (Tabel 3, Gambar 6). Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan ekstrak buah pare mengandung metabolit sekunder yaitu terpenoid, flavonoid, saponin steroid, fenolik, dan alkaloid (Afifah, 2017; Wardhani, 2015; Weng *et al.*, 2013).



Gambar 5. Hasil KLT ekstrak buah pare dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (8:2) dan fase diam silika GF₂₅₄. Plat sebelum disemprot diamati pada sinar tampak (a), sinar UV 254 nm (b), sinar UV 366 nm (c).



Gambar 6. Hasil KLT ekstrak buah pare setelah disemprot dengan FeCl₃ pada sinar tampak (a) Liebermann-Burchard pada sinar UV 366 nm (b) Dragendorff pada sinar tampak (c) anisaldehyde-H₂SO₄ pada sinar UV-366 nm (d), sitroborat pada sinar UV 366 nm (e).

Tabel 3. Data hasil analisis senyawa dalam ekstrak etanol buah pare menggunakan KLT

Rf	Sinar tampak	UV ₂₅₄	UV ₃₆₆	Reagen semprot					Kandungan Senyawa
				Anisaldehyda-H ₂ SO ₄ UV ₃₆₆	Sitroborat UV ₃₆₆	LB* UV ₃₆₆	FeCl ₃ Sinar tampak	Dragendorff Sinar tampak	
0,31	Kuning	Pemadaman	Orange	-	-	-	Hitam	-	Fenolik
0,36	Kuning	Pemadaman	Orange	-	-	-	Hitam	-	
0,44	Kuning	Pemadaman	Orange	-	-	-	Hitam	-	

Tabel 3. Lanjutan data hasil analisis senyawa dalam ekstrak etanol buah pare menggunakan KLT

0,50	Abu-abu	Pemadaman	Merah	-	-	Biru	-	-	Saponin steroid
0,56	Kuning	Pemadaman	Merah	-	-	-	-	Coklat	Alkaloid
0,57	Kuning-kehijauan	Pemadaman	Merah	Violet	-	-	-	-	Terpenoid
0,66	Kuning-kehijauan	Pemadaman	Merah	Violet	-	-	-	-	
0,75	Kuning	Pemadaman	Biru	-	Hijau muda	-	-	-	Flavonoid

*LB- Liebermann-Burchard

Terpenoid dan flavonoid pada buah pare memiliki aktivitas antikanker. Senyawa 3β , 7β -dihidroksi-25-metoksikukurbita-5,23-din-19-al yang merupakan senyawa golongan terpenoid (triterpen) dapat menyebabkan kematian apoptosis sel kanker payudara melalui aktivasi reseptor proliferasi peroksisom β (Weng *et al.*, 2013). Flavonoid dapat mengaktifasi protein p53 dan gen targetnya (Plaumann *et al.*, 1996).

4. PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah pare tidak memiliki aktivitas sitotoksik potensial terhadap sel MCF-7 dan T47D dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 408,823 $\mu\text{g/mL}$ dan 155,459 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak etanol buah pare mengandung terpenoid, flavonoid, saponin steroid, fenolik, dan alkaloid.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdolmohammadi M.H., Fouladdel S., Shafiee A., Amin G., Ghaffari S.M. and Azizi E., 2008, Anticancer Effects and Cell Cycle Analysis on Human Breast Cancer T47D Cells Treated With Extracts Of *Astrodaucus persicus* (Boiss.) Drude in Comparison to Doksorubisin, *Daru*, 16 (2), 112–118. Terdapat di: <http://journals.turns.ac.ir>.
- Afifah U., 2017, Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Tikus Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Aloksan, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Alshehri M.A., 2016, Anticancer Activity of Metanolic Extarct of *Momordica charantia* Against Human Colon, Liver and Breast Cancer Cell Lines- In Vitro, *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 6 (6), 106-111.
- Astuti E., Sunarminingsih R., Jenie U.A., Mubarika S. and Sismindari, 2014, Pengaruh Lokasi Tumbuh, Umur Tanaman dan Variasi Jenis Destilasi Terhadap Komposisi Senyawa Minyak Atsiri Rimpang *Curcuma mangga* Produksi Beberapa Sentra di Yogyakarta, *J. Manusia dan Lingkungan*, 21(3), 323-330.

- Bahuguna A., Khan I., Bajpai V.K. and Kang S.C., 2017, MTT assay to Evaluate the Cytotoxic Potential of A Drug, *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12 (2), 115–118.
- Cancer Chemoprevention Research Center, 2014, *Protokol Uji Sitotoksik*, Terdapat di: http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=240 [Diakses pada 16 Maret 2018].
- Comsa S., Cimpean A.M. and Raica M., 2015, The Story of MCF-7, *Anticancer Research*, 3154, 3147–3154.
- Farnsworth N., 1966, Biological and Phytochemical Screening of Plants, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55 (3), 255-276.
- Hassan M., Watari H., Abualmaaty A., Ohba Y. and Sakuragi N., 2014, Apoptosis and Molecular Targeting Therapy in Cancer, *BioMed Research International*.1-23.
- Kemenkes RI, 2015, *Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Indonesia : STOP KANKER*, Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- Kwarta D., Dandawate P., Padhye S., Anant S., 2016, Bitter Melon as a Therapy for Diabetes, Inflammation, and Cancer: a Panacea?, *Curr Pharmacol Rep*, 2, 34-44.
- Ma'at S, 2004, Tanaman Obat Untuk Pengobatan Kanker Bagian 3, *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 4 (1), 205-12.
- Markham, K. R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, ITB, Bandung.
- Mizutani H., Tada-Oikawa S., Hiraku Y., Kojima M. and Kawanishi S., 2005, Mechanism of Apoptosis Induced by Dokso-rubisin Through The Generation of Hydrogen Peroxide, *Life Sciences*, 76 (13), 1439–1453.
- Noorwati S., 2007, *Kemoterapi, Manfaat dan Efek Samping*, Dharmais Cancer Hospital, Jakarta.
- Plaumann B, Frirsche M, Rimpler H, Brandner G, 1996, Flavonoid Activate Wild-Type p53, *Oncogene*, 13(8), 1605-1614.
- Preethi J., Harita B. and Rajesh T., 2017, Review on Thin Layer Chromatography, *Journal of Formulation Science & Bioavailability*, 1 (1), 1–4.
- Putra A.M.P., Sari R.P., 2018, Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Mencit Putih Jantan, *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(1), 12-18.
- Schafer J.M.G. and Lee E.S., O'Regan R.M., Yao K. J.V.J., 2000, Rapid Development of Tamoxifen-Stimulated Mutant p53 Breast Kankers (T47D) in Athimyc Mice, Regular Articles, *Clinical Cancer Research*, 6 (November), 1–19.
- Saifudin A., *Senyawa Alam Metabolit Sekunder*, Penerbit Deepublish, Yogyakarta.
- Schafer J. M., Lee E. S., O'Regan R. M., Yao K., Jordan V. C., 2000, Rapid Development of Tamoxifen-stimulated Mutant P53 Breast Tumor (T47D) in Athymic Mice, *Clinical Cancer Research*, 6, 4373-4380.
- Serova M., Bieche I., Sablin M.P., Pronk G.J., Vidaud M., Cvitkovic E., Faivre S. and Raymond E., 2011, Single Agent and Combination Studies of Pralatrexate and Molecular Correlates of Sensitivity, *British Journal of Cancer*, 104 (2), 272–280. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6606063>.
- Shobha C.R., Prashant V., Suma M.N., Akila P., Chandini R., Basavana G.H., 2015, In Vitro Anticancer Activity of Ethanolic Extract of *Momordica charantia* on Cervical and Breast Cancer Cell Lines, *International Journal of Health and Allied Sciences*, 4(4), 210-217.

- Sukandar E.Y., Hartini S.R.I. and Rizkita P., 2014, Evaluasi Reaksi Obat Merugikan pada Pasien Kemoterapi Kanker Payudara di Salah Satu Rumah Sakit di Bandung, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12 (2), 183–192.
- Tussanti I. and Johan A., 2014, Sitotoksitas In Vitro Ekstrak Etanolik Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Reinw. ex bl.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D, *Jurnal Gizi Indonesia*, 2 (2), 53–58.
- Wardhani T., 2015, Composition o Water Extract from Wild Bitter Gourd (*Momordica charantia* L.) Fruit for Application as Antifeedant and Mortality Test on Armyworm Larvae (*Spodoptera litura* Fab.), *Journal of Biology and Life Science*, 6 (2), 172-192.
- Wagner, H. and Bladt, S., 1996, *Plant Drug Analysis-A Thin Layer Chromatography Atlas* (2nd ed.), Springer, German.
- Weng J.R., Bai L.Y., Chiu C.F., Hu J.L., Chiu S.J. and Wu C.Y., 2013, Cucurbitane Triterpenoid From *Momordica charantia* Induces Apoptosis and Autophagy in Breast Cancer Cells, in Part, Through Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α Activation, *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 1-12.
- Zafriah R.M., Amalia R., 2018, Artikel Tinjauan: Anti Kanker Dari Tanaman Herbal, *Farmaka Suplemen*, 16 (1), 16-23.